



UNIVERSITÀ CATTOLICA DEL SACRO CUORE  
PIACENZA

*Scuola di Dottorato per il Sistema Agroalimentare  
Doctoral School on the Agro-Food System*

Cycle XXII

S.S.D.: AGR18 / CHIM10

**FEED INTO MILK:  
QUALITY AND RISK FACTORS**

Candidate: Marco Battaglia  
Matr. n.: 3580174

Coordinator: Ch.mo Prof. Gianfranco Piva

---

Tutor: Dr. Maurizio Moschini  
Co-tutor: Ch.mo Prof. Francesco Masoero

Academic Year 2008/2009



# Index

<b>PREFAZIONE</b>	<b>iv</b>
<b>1 GENERAL INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
1.1 A JUSTIFICATION FOR THE UNION OF QUALITY AND RISK: THEIR ETYMOLOGY	2
1.2 THESIS STRUCTURE AND AIM OF THE WORK	3
<b>2 QUALITY OF MILK: WEALTH AND HEALTH OPPORTUNITY</b>	<b>5</b>
2.1 METHODS FOR MANIPULATING MILK COMPOSITION	6
<b>3 ADULTERATION OF MILK: ECONOMIC DAMAGE AND HEALTH RISK</b>	<b>9</b>
<b>4 IODINE</b>	<b>10</b>
4.1 METABOLISM AND FUNCTION OF IODINE AND THYROID HORMONES	10
4.2 IODINE DEFICIENCY DISORDERS	11
4.2.1 <i>The role of goitrogen substances</i>	13
4.3 IODINE STATUS IN EUROPE AND ITALY	14
4.4 IDD PREVENTION	16
4.4.1 <i>Universal salt iodization</i>	16
4.4.2 <i>Milk and dairy products</i>	18
4.5 IODINE IN DAIRY COWS	19
4.5.1 <i>Natural source of iodine</i>	19
4.5.2 <i>Other source of iodine and European regulation</i>	19
4.5.3 <i>Requirements, deficiency and toxicity of iodine in dairy cows</i>	20
4.6 CARRY OVER OF IODINE IN MILK AND CHEESE	21
<b>5 SELENIUM</b>	<b>22</b>
5.1 METABOLISM OF SELENIUM IN RUMINANTS	23
5.1.1 <i>Absorption and excretion pathway</i>	23
5.2 SELENOPROTEINS	23
5.3 EFFECT OF SELENIUM DEFICIENCY AND EXCESS IN HUMANS	25
5.4 SELENIUM STATUS IN EUROPE AND ITALY	27
5.5 WHAT IS THE BEST RECOMMENDED DAILY ALLOWANCE OF SELENIUM FOR HUMANS?	28
5.6 SELENIUM IN DAIRY COWS	29
5.6.1 <i>Natural source of selenium</i>	29
5.6.2 <i>Source of selenium for feed fortification and European regulation</i>	30
5.6.3 <i>Requirements, deficiency and toxicity of selenium in dairy cows</i>	31
5.7 CARRY OVER OF SELENIUM IN MILK AND CHEESE	32
5.8 SPECIATION OF SELENIUM SPECIES IN MILK AND CHEESE	34
<b>6 MELAMINE</b>	<b>36</b>
<i>Melamine intoxications: infant formula in China and pet-food in the USA</i>	36
<i>European cases of feed and food contamination with melamine</i>	37
6.1 CHEMICAL PROPERTIES, SYNTHESIS AND INDUSTRIAL APPLICATIONS	39
6.2 METABOLISM OF TRIAZINE FAMILY BY BACTERIA	41
6.3 METABOLISM OF MELAMINE IN MAMMALS	42
6.4 ACUTE TOXICITY ON RENAL SYSTEM AND CARCINOGENETY	43
6.4.1 <i>Melamine and melamine-cyanuric acid toxicity</i>	44
6.5 CARRY OVER OF MELAMINE FROM FEED TO MILK	46

<b>7 ANALYSIS OF IODINE IN MILK BY INDUCTIVELY COUPLED PLASMA – MASS SPECTROMETRY</b>	<b>48</b>
7.1 CHEMICAL PROPERTY OF IODINE	48
7.2 THE OVER -ESTIMATION GIVEN BY THE ACID EXTRACTION OF IODINE	48
7.3 THE ALKALINE EXTRACTIONS	49
7.4 SPECIATION OF IODINE	50
<b>8 Manuscript 1</b>	
<b>IODINE AND SELENIUM CARRY OVER IN MILK AND CHEESE IN DAIRY COWS: EFFECT OF DIET SUPPLEMENTATION AND MILK YIELD</b>	<b>52</b>
8.1 ABSTRACT	52
8.2 INTRODUCTION	53
8.3 MATERIAL AND METHODS	54
8.3.1 <i>Animals and diets</i>	54
8.3.2 <i>Sampling and analysis</i>	56
8.3.3 <i>Chemical composition of the TMR</i>	56
8.3.4 <i>Iodine and selenium analyses</i>	56
8.3.5 <i>CO calculation</i>	57
8.3.6 <i>Statistical analyses</i>	58
8.4 RESULTS	59
8.4.1 <i>Experiment 1</i>	59
8.4.2 <i>Experiment 2</i>	61
8.5 DISCUSSION	62
8.6 CONCLUSIONS	65
<b>9 Manuscript 2</b>	
<b>TRANSFER OF MELAMINE FROM FEED TO MILK AND FROM MILK TO CHEESE AND WHEY IN LACTATING DAIRY COWS</b>	<b>66</b>
9.1 ABSTRACT	66
9.2 INTRODUCTION	66
9.3 MATERIAL AND METHODS	68
9.3.1 <i>Experimental procedures</i>	68
9.3.2 <i>Analytical procedures</i>	69
9.3.3 <i>Extraction of melamine and cyanuric acid</i>	70
9.3.4 <i>Analysis LC/MS/MS</i>	70
9.3.5 <i>Statistical Analyses</i>	71
9.4 RESULTS	71
9.4.1 <i>Performance of the methods</i>	71
9.4.2 <i>Melamine excretion pattern in milk</i>	72
9.4.3 <i>Transfer from milk to cheese</i>	75
9.4.4 <i>Health risk of milk, whey and cheese</i>	76
9.4.5 <i>Cyanuric acid excretion in milk</i>	77
9.5 CONCLUSIONS	77

<b>10 Manuscript 3</b>	
<b>COMPARISON OF AMMONIA AND TETRA-METHYL AMMONIUM HYDROXIDE</b>	
<b>EXTRACTIONS OF IODINE IN RAW MILK</b>	<b>79</b>
10.1 ABSTRACT	79
10.2 INTRODUCTION	79
10.3 MATERIAL AND METHODS	81
10.3.1 <i>Material</i>	81
10.3.2 <i>Iodine extraction (in samples and CRMs)</i>	81
10.3.3 <i>Calibration standards, detection limit and analytical equipment</i>	82
10.3.4 <i>Identification of sources of uncertainty</i>	82
Recovery	83
Concentration	84
Dilution factor and weighing	84
Precision	85
Statistical analysis	85
Cost analysis	85
10.4 RESULTS AND DISCUSSION	86
10.4.1 <i>Cause-and-effect diagram, calibration and evaluation of uncertainties</i>	86
Recovery	86
Concentration and calibration	86
Precision	87
Dilution factor and weighing	87
Combined and expanded uncertainty	87
10.4.2 <i>Iodine determination and comparison of the methods</i>	88
10.4.3 <i>Cost analysis</i>	89
10.5 CONCLUSIONS	89
<b>11 Manuscript 4</b>	
<b>SPECIATION OF INORGANIC IODINE IN RAW MILK USING ION CHROMATOGRAPHY</b>	
<b>WITH INDUCTIVELY COUPLED PLASMA-MASS SPECTROMETRY DETECTION</b>	<b>91</b>
11.1 MATERIAL AND METHODS	91
11.2 RESULTS AND DISCUSSION	92
11.3 CONCLUSIONS	92
<b>12 GENERAL CONCLUSIONS</b>	<b>94</b>
<b>ACKNOWLEDGEMENTS</b>	<b>97</b>
<b>REFERENCES</b>	<b>98</b>

## Prefazione\*

### ITALIANO

Ritorna alla memoria la polvere grigia che cade sui figli dell'uomo, il tempo prezioso raggelando la mente in un vano e assoluto riposo studiando le cose già viste sullo schermo elettronico o le false riviste. Perché tutto si dice e tutto si fa senza sapere il perché. Ma il mio tempo soffia e ribolle, e per quanto mi creda assolto sarò per sempre coinvolto. Questo è il male che mi porto da trent'anni addosso e il muschio non cresce sopra il sasso.

Un altro inverno porterà la neve e cosa farò di sabato in questa città dove c'è gente che lavora per avere un mese all'anno di ferie? Guarderò annunci sui giornali e nessuno che mi aspetta o mi sospetta.

Barcolliamo tra falsi miti e uomini in malafede.

Nell'altissimo volume delle radio quanta brutta produzione e altissimo consumo, sarà per questo che i ragazzi si sono alzati stanchi? Ma è l'ultima possibilità che ho prima di lasciare il boschetto della mia fantasia e invocare pietà, quand'ecco che un piccolo amico si avvicina e finalmente svela l'arcano enigma:

“Sappiamo che il nostro organismo secerne svariate sostanze ma il loro utilizzo ancora ci è ignoto per la nostra scarsa nozione del cosmo, per la nostra scarsa nozione del corpo, a causa del fatto che misconosciamo le varie funzioni a cui esso è preposto e perché”.

Quindi, è ovvio che Re Carlo tornava dalla guerra ed il Signor G è sul secondo canale alle ore ventidue, ben saldo della sua libertà: l'avere ancora un cannone nel cortile.

### SICILIANU

Riturna a la mimoria lu pruvulazzu griciu ca cari supra i figghi di l'omu, lu tempu prizziusu agghigghiannu a menti 'nta nu vanu e assolutu rriposu studiannu i cosi ggia visti 'nta lu schermu elettronicu o 'nta falsi ggiornali. Picchi'ntu si dici e tuttu si fa sinza sapiri u picchi. Ma lu mo tempu suscia e ribuddi, e ppi quantu mi crira assoltu sarò ppi sempri ammiscatu. Chistu è u mali ca c'haju 'n'cuodu da trent'anni e u vischiu nun crisci supra a petra.

N'autru nvernu purtirà a nivi e cchi ffarò di sabbatu nta sta cità unni c'è ggenti ca travagghia p'aviri 'n misi all'annu di ferii? Mi legghiu annuncia nte i ggiornali e nudu ca m'aspettassi o mi suspittassi.

Abbannamu tra falsi mita e ommini di malafede.

Nta lo forti volumi di li radiu quanti produzzioni laiti e iautu consumu, cchi sarò ppi chistu ca i picciotti si susierru abbauttuti? Ma è l'ultima possibbilità ca c'haju prima di lassari u bboschiteddu di la mia fantasia e invucari pietati, e tutta na vota n'amicu nicuzzu s'avvicina e finalmenti svila l'arcana miniminagghia:

“Sapiemu ca u nostru corpu sicerne ddiverse sustanzi ma comu si usanu chisti ancora nun si sapi ppà nostra legghia nozioni do cosmu, ppà nostra legghia nozioni do corpu ppò mutivo ca scanuscemu i vari funzioni accui issu è pripostu e picchi”.

Quinni, è logicu ca Re Carlu turnava da la guerra e u Signur G è nto sicunnu canali e vintidui, bellu forti di la sua libertà: l'haviri ancora 'n cannoni nto ggiardinu.

---

\* Mosaico di cantautori. Autori “usati” in ordine di primo uso: Pierangelo Bertoli, Pippo Pollina, Vinicio Capossela, Fabrizio De Andrè, Franco Battiato, Samuele Bersani, Elio e le Storie Tese, Juri Camisasca, Giorgio Gaber.